

Microtomía y preparación de la sección en parafina

Scientia

Leica Microsystems' Education Series

Living up to Life





Rúa do Arroncal 9 – Vial C – NAVE 4C – Parq. Emp. Porto do Molle – 36350 Nigrán – Tel. 986 493 253 Fax. 986 425 165

Introducción

La preparación de secciones de alta calidad para histopatología requiere aptitudes y experiencia; pero todos tenemos que empezar de algún modo. Este folleto ha sido elaborado como un documento de formación para los principiantes en la microtomía y en la preparación de secciones en parafina y como un curso de actualización para los histólogos más experimentados. Abarca los elementos esenciales para ajustar un microtomo rotatorio y operar con seguridad al preparar secciones en parafina. Se ilustran algunos de los fallos más habituales relacionados con las secciones y se proporcionan sugerencias para la localización de problemas.

El microtomo representado a lo largo de este folleto es un microtomo manual Leica RM2235, pero las sugerencias y los comentarios que se facilitan se pueden aplicar a los microtomos rotatorios más modernos. En el manual de instrucciones propio del instrumento puede encontrar una descripción de las características mecánicas y de seguridad de otros modelos de microtomos e instrucciones para su uso.



Rúa do Arroncal 9 – Vial C – NAVE 4C – Parq. Emp. Porto do Molle – 36350 Nigrán – Tel. 986 493 253 Fax. 986 425 165

Scientia

Conocimiento. Ciencia. Aptitud.

Los documentos formativos Scientia education series de Leica Microsystems forman parte de nuestro compromiso de mejorar la teoría y la práctica de la histología a través de la educación, la formación y el discurso científico.

Autor:
Geoffrey Rolls

Han participado:
Claudia Dorenkamp
Neville Farmer
Jan Minshew
Kerrie Scott-Dowell
Fiona Tarbet

Contenido


Comercial
Hospitalaria
Grupo-3, S.L.

1. Fije las muestras de manera adecuada

La fijación es el paso más importante al llevar a cabo las técnicas de preparación de muestras histológicas. No importa el cuidado con el que procese y seccione las muestras de tejido, los detalles morfológicos esenciales sólo se mostrarán si el tejido se fija de manera adecuada y rápida.

- Casi siempre es más difícil seccionar las muestras mal fijadas que aquellas que están bien fijadas.
- Los tejidos mal fijados siempre mostrarán menos características morfológicas, aunque se hayan procesado de manera óptima y con cuidado.

2. Procese el tejido de forma apropiada

Un bloque de parafina será difícil de seccionar, a no ser que una muestra bien fijada sea procesada de la manera adecuada utilizando un programa apropiado

- Las muestras pueden estar poco procesadas (muestra demasiado grande, programa demasiado breve) o demasiado procesadas (programa demasiado largo para el tamaño y la naturaleza de la muestra). En ambos casos, puede ser difícil o imposible realizar un corte.
- Existen varias técnicas que se pueden utilizar para obtener secciones de bloques difíciles.
- Si es difícil seccionar el bloque porque el tejido es duro, la superficie expuesta puede empaparse en agua fría o en un agente reblandecedor, como una solución de detergente blando, suavizante o Mollifex™.
- Para muestras calcificadas, puede aplicar un agente decalcificador, durante 10 minutos o más, en el tejido expuesto, ello le permitirá obtener varias secciones. Enjuague bien los bloques antes de montarlos en el portamuestras del microtomo y de volver a cortarlos, ya que los rastros del agente de descalcificación dañarán la placa de presión del portacuchillas.
- El sistema Leica Paraffin Tape-Transfer™ está recomendado para obtener secciones de bloques difíciles en los que la fijación, el procesamiento o la infiltración puede ser errónea y los métodos de corte normales no se realizan con éxito.
- Cuando es imposible obtener secciones de un bloque porque la muestra ha sido incorrectamente procesada en primera instancia, puede ser posible reprocesarlo.



Este bloque de páncreas no tiene una fijación suficiente y ha sido procesado utilizando un protocolo que era demasiado breve. Muestra los efectos típicos del procesamiento insuficiente que ha ocasionado una considerable reducción de la muestra dentro de laf parafina que tiene alrededor. El tejido estaba suave y blando y era imposible de cortar. Es preciso volver a reprocesarlo.


Rúa do Arroncal 9 – Vial C – NAVE 4C – Parq. Emp. Porto do Molle – 36350 Nigrán – Tel. 986 493 253 Fax. 986 425 165

3. Realice la inclusión de las muestras con cuidado

La inclusión es un paso importante que precisa una aproximación cuidadosa. Una inclusión poco cuidadosa puede hacer la microtomía mucho más difícil.

- No llenar lo suficiente el molde de inclusión puede dar lugar a una sujeción inestable en el microtomo y originar cortes de distinto espesor " uno grueso y después otro fino" y otros problemas.
- Evitar llenar excesivamente los moldes de inclusión, porque esto puede interferir con la alineación correcta de la cara del bloque durante el corte.
- Cualquier exceso de parafina en la parte exterior del molde de inclusión debería ser eliminado antes de sujetarlo, para asegurarse de que el bloque está sujeto con firmeza durante el seccionamiento.
- La orientación de la muestra es muy importante (consulte el punto 8 de la página 11).



Ejemplos de moldes de inclusión llenados de forma insuficiente (izquierda), llenados de forma excesiva (derecha) y llenados correctamente (centro). Los moldes de inclusión llenados de forma insuficiente o excesiva pueden ocasionar problemas durante la microtomía

4. Coloque el microtomo de manera adecuada

La posición del microtomo en el laboratorio es importante.

- Coloque el microtomo en un lugar estable, lejos de ráfagas de aire, puertas y puntos de paso. Cualquier movimiento del aire debido a los equipos de aire acondicionado u otras causas puede hacer que el tratamiento de la sección sea muy difícil.
- Es preferible utilizar un banco ajustable en altura y una silla ergonómica.
- Es muy importante que el personal no esté distraído al usar el microtomo por los riesgos de lesionarse con cuchillas extremadamente afiladas. Al colocar los microtomos en un laboratorio debería considerarse el potencial para interactuar con otros miembros del personal.
- Es preferible tener un suelo antideslizante en las inmediaciones de los microtomos porque, inevitablemente, los fragmentos de parafina caerán al suelo y pueden originar una superficie resbaladiza. Muchos laboratorios usan esterillas antideslizantes para que el entorno sea más seguro.



Rúa do Arroncal 9 – Vial C – NAVE 4C – Parq. Emp. Porto do Molle – 36350 Nigrán – Tel. 986 493 253 Fax. 986 425 165

5. Utilice las características de seguridad de forma apropiada

Debe estar familiarizado con las características de seguridad del microtomo que está utilizando y observar algunas normas básicas durante el corte.

- Las cuchillas reutilizables y desechables del microtomo están extremadamente afiladas y pueden causar lesiones de carácter grave a no ser que se actúe con el cuidado pertinente al trabajar con ellas. Los accidentes se producen cuando un usuario está distraído o no está completamente concentrado.
- Use pinzas o pincel en lugar de los dedos para coger las secciones o los fragmentos de parafina de la cuchilla o de la cara del bloque.
- Los microtomos de rotación Leica están equipados con una protección de seguridad (protección de la cuchilla o protección del dedo), un bloqueo del volante y un freno del volante para garantizar que se trabaja con seguridad.
- La protección de seguridad puede estar colocada para cubrir toda la longitud del filo.
- El bloqueo del volante inmovilizará el portamuestras en la parte superior de la carrera de corte; se debe utilizar al cambiar los bloques.
- La protección debe estar colocada y el bloqueo del volante activado cuando un bloque está siendo colocado o elimindo de la pinza portabloques, o cuando se está realizando cualquier manipulación del bloque mientras la cuchilla está colocada. La protección también debe ser utilizada cuando el microtomo se deja sin supervisión.
- El freno del volante bloqueará el microtomo en cualquier posición del mango; se utiliza al realinear la cara del bloque o al ajustar el avance de desbaste.



En esta ilustración, se ha colocado la protección de seguridad roja en el microtomo Leica RM2235 en su posición. Cubre por completo el filo de la cuchilla.



El bloqueo del volante se muestra aquí con el volante en la posición de las 12 del reloj y el bloqueo activado. Dicho bloqueo sólo se activará en esta posición en la parte superior de la carrera de corte.

- La cuchilla debería ser extraídas del microtomo cuando se limpia el equipo o se deja sin supervisión. La mejor manera de hacerlo es quitar la sujeción y utilizar el expulsor de la cuchilla situado en la parte izquierda de la protección para comenzar a extraerla lateralmente. Se puede utilizar unas pinzas (no con los dedos) o elevar con el imán al final del pincel Leica y extraerlo de forma segura. Las cuchillas utilizadas deberían desecharse de manera adecuada en un contenedor de “objetos afilados” o en la ranura de “cuchillas usadas” situada en la base del dispensador de cuchillas.
- No deje nunca una cuchilla en el lugar de trabajo o en una caja, con el filo mirando hacia arriba. Si por casualidad se cae una cuchilla, déjela caer, no intente cogerla en ningún caso (éste es un reflejo natural contra el que tiene que luchar).

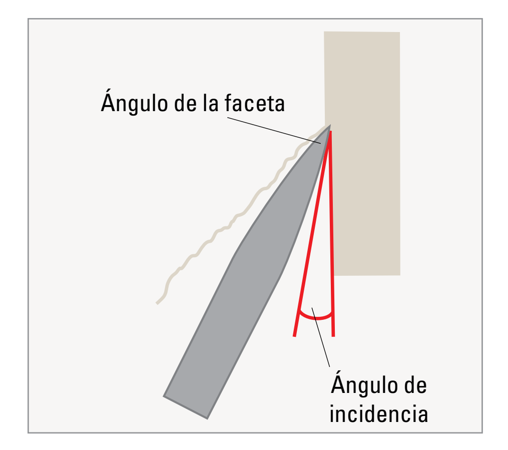


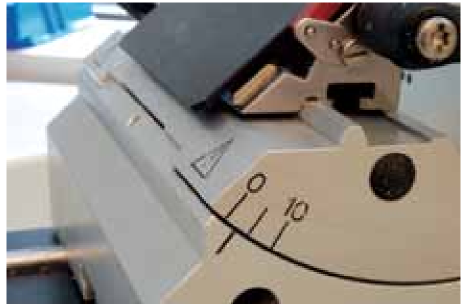
El freno del volante del Leica RM2235 se muestra aquí en su posición de bloqueo. El freno puede activarse con el volante en cualquier posición. Ni el bloqueo del volante ni el freno del volante se pueden utilizar para inmovilizar el microtomo.

6. Ajuste el ángulo de inclinación de la cuchilla de forma óptima

El ángulo de inclinación de la cuchilla se puede ajustar y debe ser configurado para un rendimiento óptimo

- El ángulo de incidencia previene el contacto entre la faceta de la cuchilla y la cara del bloque.
- El ángulo de la faceta es el ángulo creado entre las dos facetas que forman el filo. Para el uso rutinario, las cuchillas desechables están hechas con un ángulo de la faceta de 35° aproximadamente, pero este ángulo puede variar en función del tipo de cuchilla y su fabricante.
- Por eso, hay que ajustar, de forma óptima, el ángulo de inclinacióna en función del tipo de cuchilla.
- Siga las instrucciones del fabricante del microtomo para el ajuste del ángulo recomendado. Para los portacuchillas Leica se recomienda[1] un ajuste de entre 1° y 5°.





7. Maximice la vida útil de la cuchilla

Hay algunas estrategias simples para obtener la vida máxima de cada cuchilla.

- Al limpiar la cuchilla, evite arrastrar cualquier cosa a lo largo del filo, incluso las fibras de celulosa pueden dañarla.
- Evite tocar el borde con cualquier objeto duro, como un pincel o unas pinzas.
- Use la cuchilla sistemáticamente, trabajando desde un extremo al otro. Esto le proporcionará la máxima vida útil a cada parte de la cuchilla.
- Utilice un lado de la cuchilla para desbastar y otro para la obtención del corte, o alternativamente use cuchillas diferentes.
- Un microtomo de retracción prolonga la vida de la cuchilla porque retrae ligeramente la muestra después del corte y reduce la formación de residuos en la parte posterior de la cuchilla..

8. Oriente la muestra de manera adecuada

La orientación de la muestra puede afectar a la facilidad con la que se puede obtener una cinta e influye directamente sobre la calidad de la sección.

- En la mayoría de los laboratorios, todos los moldes de inclusión están colocados en la pinza portaobjetos con la misma orientación (p. ej., la etiqueta hacia la izquierda para la orientación este-oeste o la etiqueta boca arriba para la orientación norte-sur). Esto se hace para facilitar el desbastado de múltiples bloques antes de preparar las secciones de alta calidad y de permitir cortes más profundos o recortes sin una pérdida excesiva del tejido. Por eso, debe tener en cuenta la orientación de la muestra hacia la cuchilla **en el estado de inclusión. Este requisito a menudo se pasa por alto.**
- La ilustración de la página 12 muestra la orientación preferida para algunas muestras típicas. Las opiniones difieren en lo que se refiere a qué orientación es la mejor para determinados tipos de muestra, pero la orientación es importante y se debe tomar en consideración.
- Ejemplo A. Intestino: la cuchilla pasa a través de la mucosa al final
- Ejemplo B. Cérvix: es mejor presentar un punto de tejido denso en la cuchilla más que un borde recto.
- Ejemplo C. Piel: la cuchilla pasa a través de la epidermis al final.
- Los microtomos como el Leica RM2235 también tienen un instrumento de precisión de la orientación con controles calibrados que facilita el hecho de encontrar una posición cero o una variable medida en los ejes x/y. Tener esta capacidad es muy útil cuando se recortan los bloques preparados en otros laboratorios o en otros microtomos, donde se requiere una alineación precisa para evitar una pérdida innecesaria de tejido. Para usarlo de manera rutinaria, al cortar varios bloques, es

importante que este portamuestras esté ajustado a la posición cero en ambos ejes, antes de empezar a cortar. Esto se consigue fácilmente utilizando los indicadores (rojos), puntos de las muescas (paradas de clic) y las marcas de indicadores.

A. Intestino

B. Cérvix

C. Piel

Cuchilla

9. Estudie las características del diseño de su microtomo y aprenda a utilizarlas

Los microtomos con retracción están diseñados para que la muestra se retire de la cuchilla en la carrera ascendente. Es importante saber si su microtomo tiene esta prestación.

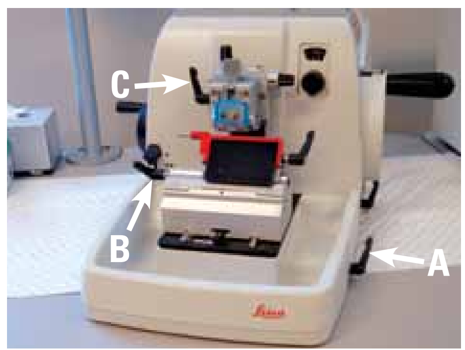
- La posición retraída es una característica de diseño que proporciona distintas ventajas durante el corte y prolonga la vida de la cuchilla.
- Al usar un microtomo de retracción, el alineamiento de la cara del bloque al borde de la cuchilla debe ser efectuado con el bloque en la carrera descendente (en la posición avanzada – no retraída).
- Si un bloque está alineado cerca del borde de la cuchilla mientras el brazo de la muestra está en la posición retraída, en la siguiente vuelta completa del volante, el bloque avanzará en función del valor de la posición retraída más el grosor de la sección seleccionada. Esto provocaría que se cortara un trozo grueso que podría dañar tanto la muestra como la cuchilla.
- Los microtomos también pueden ser manuales, semimotorizados o completamente motorizados.
- Los equipos motorizados reducen los movimientos repetitivos que pueden contribuir a desarrollar enfermedades músculo-esqueléticas.

10. Tenga cuidado al efectuar un “recorte”, un “refrentado” o un “desbastado”

En la microtomía, esta etapa requiere un excelente cuidado, ya que tejido importante para el diagnóstico se puede perder fácilmente o la superficie del bloque puede ser dañada.

- Antes de iniciar el recorte, asegúrese siempre de que todos los mecanismos de sujeción están apretados con seguridad.
- El objetivo de recortar un bloque de forma adecuada es exponer el tejido con cautela en el nivel en el que se pueda obtener una sección representativa.
- El recorte normalmente se efectúa con unos grosores de entre 10 y 30 µm.
- Al efectuar un recorte basto y rápido de tejidos quebradizos se corre el riesgo de dañar la superficie de la muestra[2]. Tenga especial precaución al utilizar el dispositivo de recorte mecánico a 30 µm.
- Como paso final, pula la cara del bloque cortando suavemente unas pocas secciones finas. Esto evitará el problema ilustrado en el punto 18B de la página 24.

Rúa do Arroncal 9 – Vial C – NAVE 4C – Parq. Emp. Porto do Molle – 36350 Nigrán – Tel. 986 493 253 Fax. 986 425 165



La base del soporte de la cuchilla, abrazadera A, el desplazamiento lateral, abrazadera B, y la orientación x-y, abrazadera C, deberían estar bloqueadas firmemente antes de recortar el bloque. Si no se hace así, se pueden provocar daños tanto en el bloque como en la cuchilla.



El dispositivo de recorte mecánico debería ser utilizado con cuidado al realizar el desbastado, particularmente el ajuste bajo (..) que produce un avance de 30 µm cuando está activado.

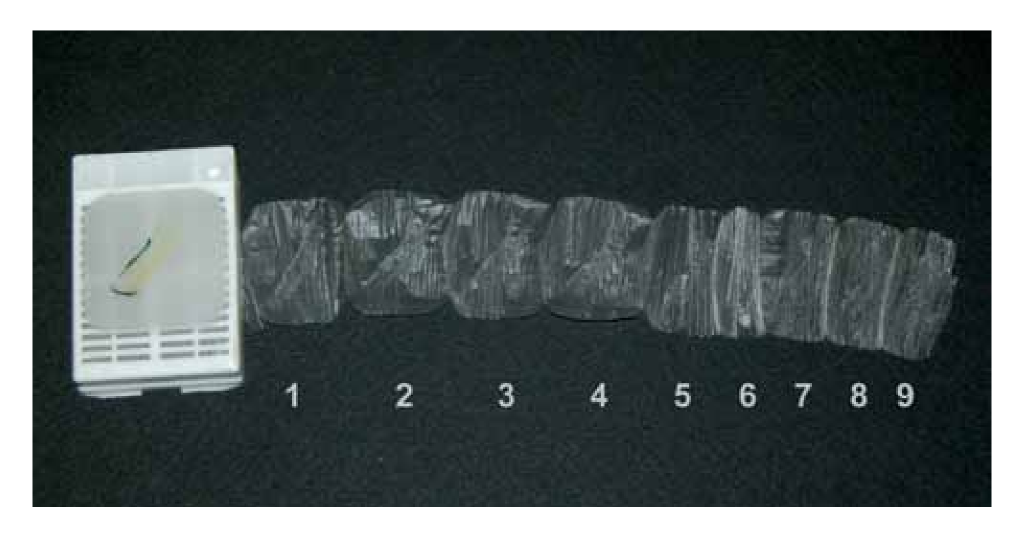


Al realizar el desbastado es preciso utilizar la rueda de avance de desbaste con cuidado para evitar cortar trozos gruesos de la superficie de la muestra involuntariamente y ocasionar daños.

11. Tenga en cuenta los factores que afectan al grosor de la sección

Configure el microtomo con el ajuste deseado pero observe que hay varios factores que determinan el grosor de la sección real.

- Una sección cohesiva de 4 µm puede proporcionar más información que una sección de 2 µm interrumpida severamente.
- El grosor real del primer par de secciones de una cinta puede ser mayor de lo indicado debido a la dilatación por calor[3,4], al cortar un bloque frío (como se ha descrito en las secciones 1, 2 & 3 abajo).
- Otros factores como la velocidad de rotación, el ajuste del ángulo de incidencia y las condiciones del filo pueden influir sobre el grosor real alcanzado.





12. Asegúrese de que los bloques están fríos

El corte normalmente mejora cuando la muestra está bien incluida en parafina dura. Por esta razón, la mayoría de los bloques de parafina deben estar fríos cuando se cortan las secciones. El método exacto utilizado para enfriar el bloque es importante.

- La parafina fría proporciona un mejor soporte para los elementos duros en una muestra, permitiendo que se obtengan secciones más delgadas.
- Coloque los bloques sobre una placa fría o sobre una superficie fría y **húmeda** durante unos minutos (como la superficie de hielo derritiéndose).
- El agua penetra un poco en la cara del bloque, hinchando los tejidos y haciéndolos más adecuados para cortarlos. Esto tiene particular importancia en el caso de tejidos excesivamente deshidratados, secos o que se desmigajan.
- El hecho de colocar los bloques en el congelador puede ocasionar la ruptura de la superficie, cuando el tejido se separa de la parafina que tiene alrededor. Esto puede hacer que sea más complicado obtener secciones cohesivas.

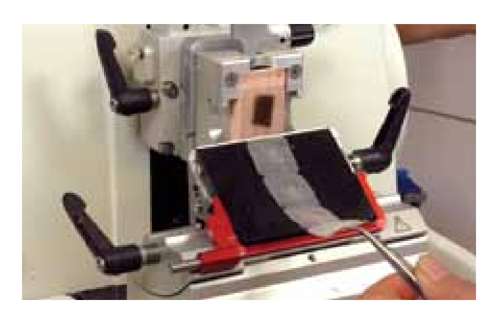


Las secciones de la izquierda fueron cortadas de un bloque relativamente caliente, sin enfriar. Las secciones de la derecha fueron cortadas del mismo bloque después de que se enfriara, sobre la superficie de hielo derritiéndose.

13. Estudie la técnica para cortar secciones finas, de elevada calidad y consistentes

No existe ningún sustituto para la experiencia, pero hay algunos pasos fundamentales que harán la tarea más fácil.

- Use una sección de cuchilla que no haya sido utilizada para el desbastado.
- Al utilizar el avance de desbaste, evite cortar secciones gruesas involuntariamente, ya que esto podría dañar su cuchilla y, posiblemente, la cara del bloque.
- Si la cara del bloque se calienta o si se requieren niveles más profundos, puede ser necesario volver a enfriarlo.
- Generalmente, los mejores resultados y la menor compresión se obtienen con una carrera de corte uniforme y lenta.
- No pare ni reinicie durante una carrera de corte ya que esto produciría franjas de diferentes grosores a lo largo de la sección.
- La práctica de soplar suavemente sobre la cara de un bloque enfriado, justo antes de cortar cada sección es una práctica común en algunos laboratorios. La aplicación de un aliento cálido y húmedo tiende a hacer las secciones más cohesivas, pero también ocasiona la dilatación a causa del calor, por eso, la sección se hace más gruesa[3].
- Los residuos que se adhieren al borde superior o inferior del bloque o a la parte trasera de la cuchilla pueden dificultar la obtención de cintas cohesivas y ocasionar que la cinta se separe de la cuchilla en la carrera ascendente. Si hay residuos, elimínelos, vuelva a enfriar el bloque y comience de nuevo.



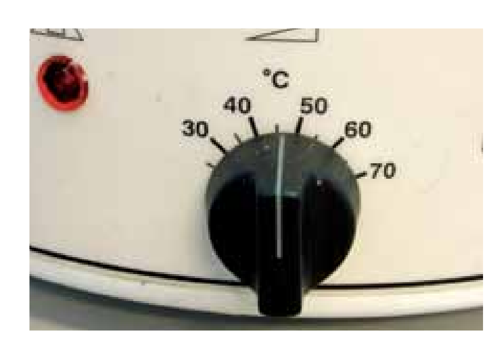
Esta cinta ha sido cortada con una carrera lenta y constante, a partir de un bloque bien procesado y completamente frío. Las secciones muestran muy poca compresión, incluso antes de la flotación.

14. Elija el portaobjetos y el adhesivo correctamente

La elección del portaobjetos y del adhesivo depende de los métodos de tinción que se aplicarán inmediatamente después.

- Los portaobjetos siempre deben estar limpios, sin grasa ni polvo, y deben guardarse y manipularse correctamente.
- Si la tinción se realiza para incluir la recuperación antigénica (IHC), el pretratamiento enzimático (ISH) o los prolongados pasos de incubación, se deben utilizar portaobjetos cargados o un adhesivo como el amino-alquil-silano (AAS). Algunos tintes especiales, particularmente aquellos que emplean reactivos alcalinos, también pueden hacer que las secciones se eleven despegándose.
- Los portaobjetos siempre deben estar etiquetados de manera adecuada y con precisión, de forma que cumplan las regulaciones locales.

15. Deje flotar las secciones con cuidado



La flotación debería expandir la sección a sus dimensiones originales y garantizar que es completamente plana.

- Supervise la temperatura con cuidado. La temperatura deberá oscilar entre 5-9 °C por debajo del punto de fusión de la parafina.
- Asegúrese de que el agua está limpia y de que no tenga burbujas ni residuos de la sección (para evitar una contaminación entre sí).
- Coloque las secciones con el lado liso (brillante) hacia abajo.
- Coloque las secciones en la superficie del agua con un movimiento de barrido suave.
- Las secciones se pueden dañar con mucha facilidad al quitar las arrugas o burbujas con un cepillo o pinzas.
- Examine cada sección mientras flota en la superficie del agua, ya que las imperfecciones se pueden ver fácilmente.
- Deje la muestra seccionada en la superficie del agua el tiempo suficiente para que se alise. Una expansión excesiva puede estropear la morfología en secciones sensibles.
- Para propiciar un drenaje eficiente y para prevenir que la sección se caiga del portaobjetos, extraiga los portaobjetos del agua en posición vertical.

- Antes de colocar los portaobjetos en un horno o secador de portaobjetos, escúrralos en posición vertical brevemente para quitar el exceso de agua.
- Elimine la espuma de la superficie del agua con un tejido sin pelusas entre los bloques, para evitar cualquier posibilidad de una contaminación entre sí.
- Para evitar cualquier posibilidad de mezcla, haga flotar las secciones de un bloque simultáneamente.




Las secciones de dos bloques diferentes no deben flotar en el agua simultáneamente. Incluso aunque las muestras sean de un tipo diferente, existe la posibilidad de una contaminación entre sí y de confusión, lo que provocaría una identificación incorrecta. Por eso, este procedimiento debería evitarse en todas las ocasiones.

16. Seque los portaobjetos de manera adecuada

Un secado adecuado garantiza que las secciones estén completamente deshidratadas, libres de daños por calor, planas y que sea improbable que se despeguen durante la tinción.

- Drene el agua excedente de debajo de la sección antes de secarla. Esto es vital si los portaobjetos están secos y planos sobre una placa caliente[5].
- Los portaobjetos pueden ser almacenados en estantes en posición vertical y después secados en un horno.
- Generalmente, las temperaturas de secado no deberían superar los 65 ˚C.
- Un calor excesivo puede ocasionar gotas de agua debajo de una sección que se va a hervir y esto provocaría daños.
- Seque las secciones durante un tiempo de entre 10 y 30 minutos.
- Algunas muestras delicadas obtendrán los mejores resultados al secarlas a 37 ˚C durante más tiempo (varias horas hasta por la noche).

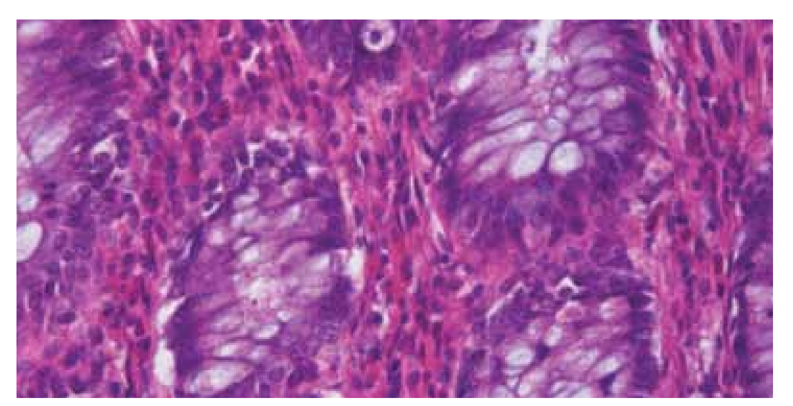
17. Realice una limpieza y un mantenimiento profundo del microtomo

Es importante eliminar la parafina y los residuos de tejido acumulados después de su uso. Es importante efectuar un mantenimiento preventivo de forma regular.

- Limpie el equipo diariamente.
- Antes de limpiarlo, quite siempre la cuchilla.
- El portacuchillas se puede retirar sencillamente para facilitar el acceso para limpiarlo.
- Los desperdicios de la sección se quitan mejor con un pincel seco.
- No limpie las superficies exteriores con alcohol o xileno, ya que no son resistentes a estos disolventes y se debe evitar una exposición al xileno. Se recomiendan una solución para eliminar la parafina, detergentes comerciales suaves o jabón y agua.
- Durante la limpieza, no debe penetrar ningún fluido en el interior del instrumento.
- Como mínimo una vez al año, el instrumento debe pasar una inspección realizada por un técnico de servicio cualificado.
- Siga las instrucciones de lubricación facilitadas en el manual de instrucciones y utilice los lubricantes recomendados.

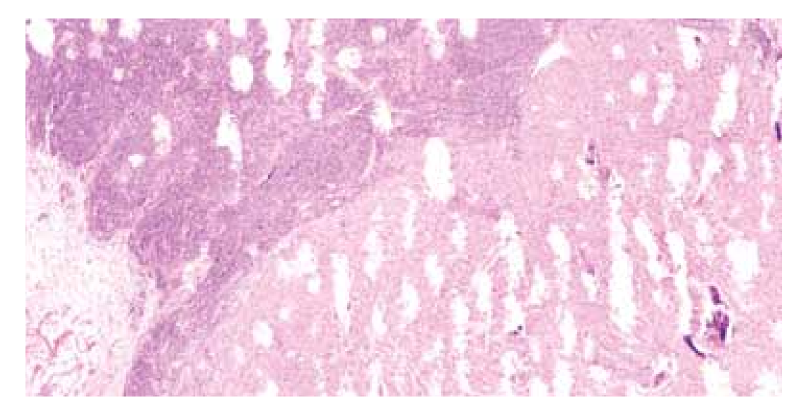
18. Aprenda a reconocer y a corregir los fallos comunes

Alguno de los fallos más comunes que se ven en las secciones de parafina son:



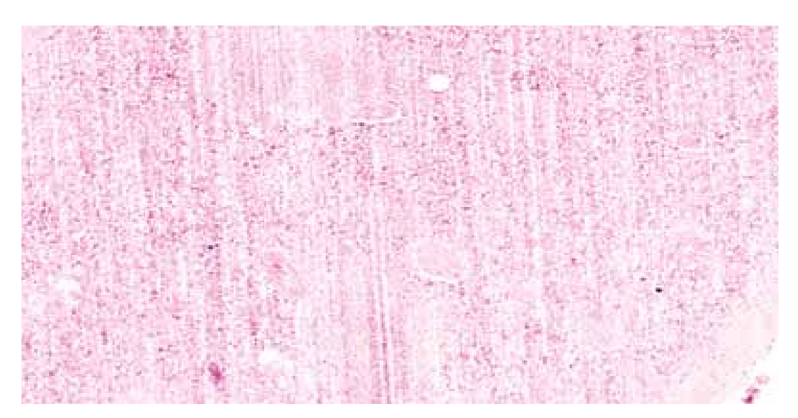
A. Sección demasiado gruesa

- Ajuste erróneo del micrómetro
- Aplicación de aliento caliente a un bloque frío para facilitar el seccionamiento
- Elección de la primera sección en la cinta
- Seccionamiento a demasiada velocidad
- Procesamiento pobre
- El microtomo precisa una recalibración



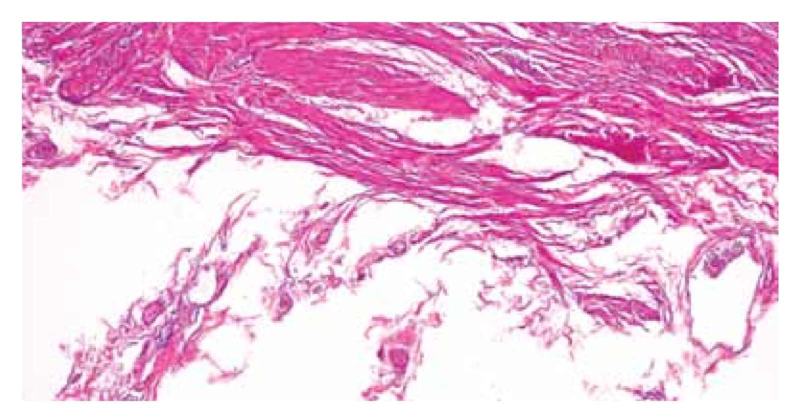
B. Oquedades debido a un recorte basto

- Bloque cortado con demasiada rapidez
- Superficie del bloque sin pulir al recortar algunas secciones finas después del desbastado
- Grosor inapropiado de la sección utilizado al recortar
- Bloque quebradizo (¿demasiado procesado?) o demasiado frío al cortarlo



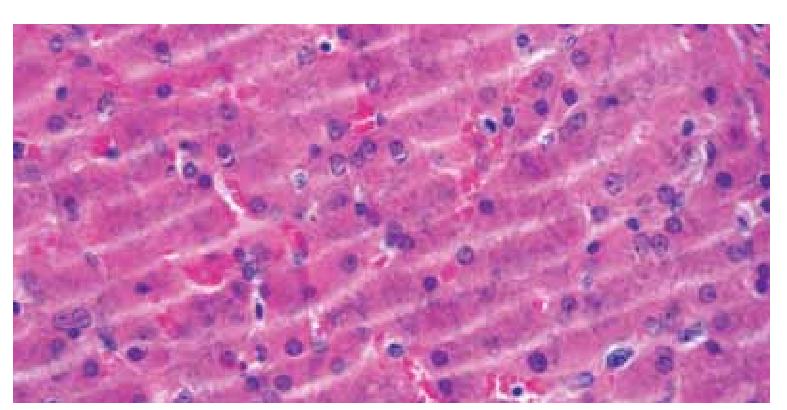
C. Líneas de cuchillas (estrías verticales en la sección)

- Se utilizan cuchillas dañadas
- Procesamiento pobre
- Material duro como el calcio en un bloque
- Residuos en la parafina sin filtrar
- Sales tampón precipitadas en las muestras



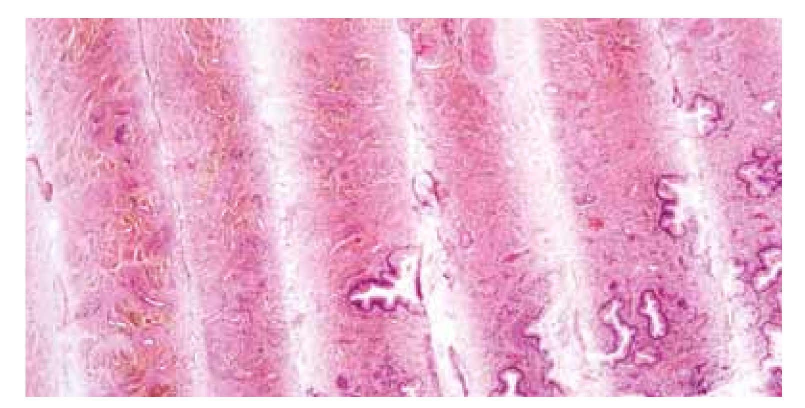
D. Disgregación

- Tratamiento basto de la muestra durante la expansión
- Procesamiento pobre (infiltración, compensación o deshidratación incompleta)
- Tratamiento vigoroso para quitar las arrugas durante la flotación
- Dejarla flotando demasiado tiempo o utilizar agua que está demasiado caliente



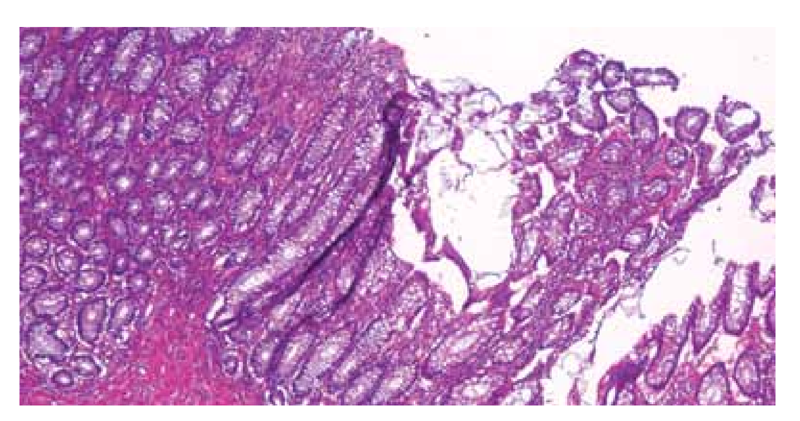
E. Pequeñas grietas o micro-rugosidades

- Tejido excesivamente procesado
- Bloque demasiado frío
- Corte demasiado rápido
- El mecanismo de abrazadera no está bloqueado de forma segura
- Es necesario ajustar el ángulo de incidencia



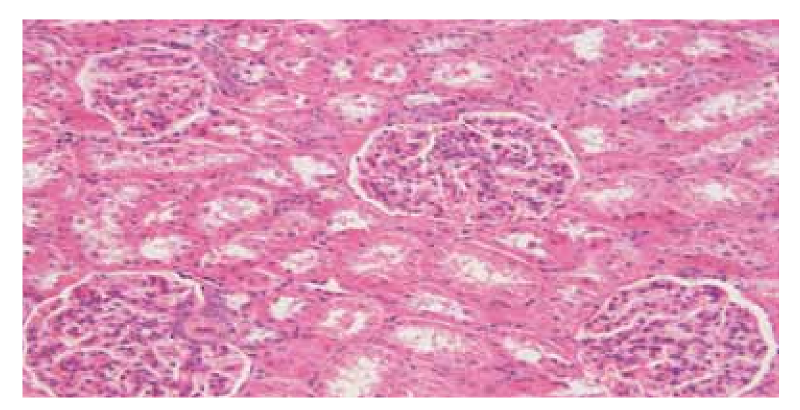
F. Rugosidad basta

- El mecanismo de abrazadera no está bloqueado de forma segura
- Muestra grande o muy dura
- Procesamiento pobre
- Ángulo de incidencia insuficiente
- Seccionamiento demasiado rápido
- Micrótomo desgastado



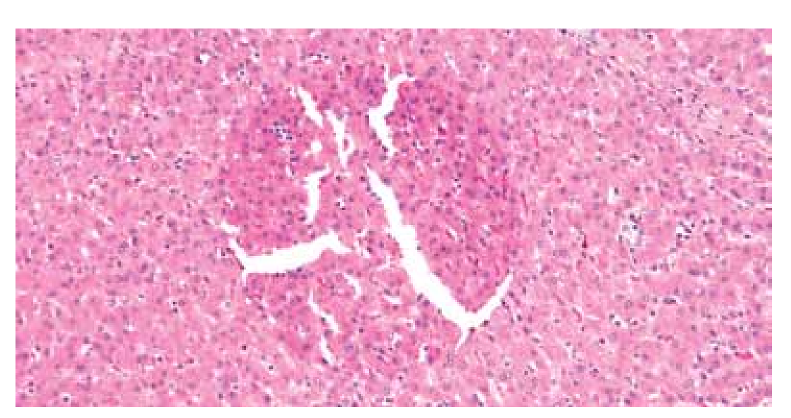
G. Pliegues

- Técnica de flotación inadecuada
- Procesamiento y/o fijación inadecuados (soporte insuficiente)
- Bloque caliente
- Sección demasiado fina
- Ángulo de incidencia demasiado grande
- Baño de agua demasiado caliente



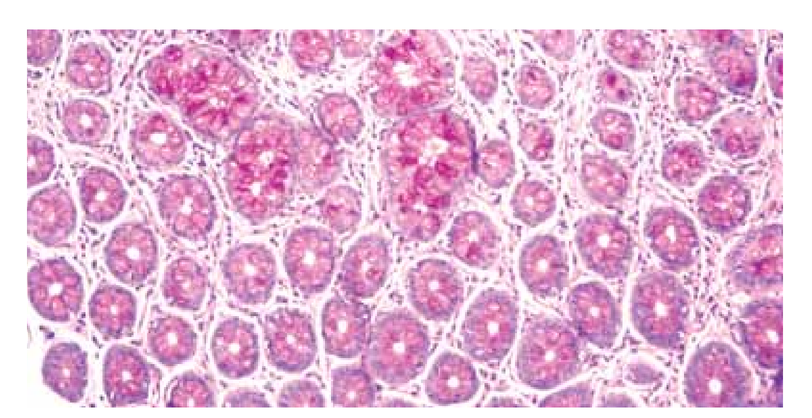
H. Excesiva compresión

- Procesamiento pobre (soporte insuficiente)
- Bloque caliente
- Corte demasiado rápido
- Filo desafilado
- Ángulo de incidencia demasiado grande
- Parafina de mala calidad



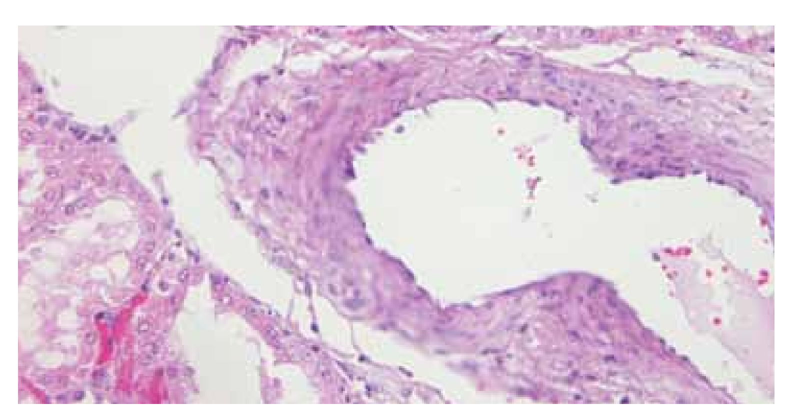
I. Burbujas debajo de la sección

- Burbujas que se adhieren a la base y a los lados del baño de flotación
- Mala técnica de flotación que acumula burbujas debajo de la sección



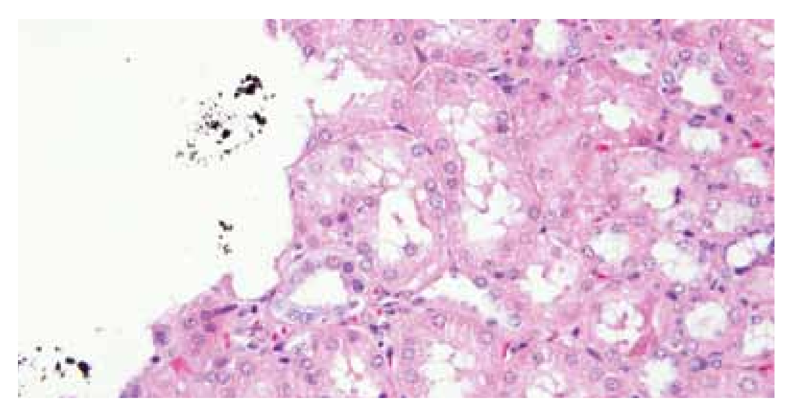
J. Sobreexpansión durante la flotación

- Temperatura del baño demasiado elevada
- Se ha dejado la sección demasiado tiempo en agua
- Procesamiento y/o fijación pobre (disolvente residual)



K. La sección no es plana (mala adherencia)

- Sección de mala calidad (arrugas, burbujas)
- Baño de flotación demasiado frío
- Uso de un portaobjetos sin recubrimiento
- Sección no drenada por completo después de la flotación
- Tiempo de secado insuficiente
- Temperatura de secado demasiado baja



L. Presencia de polvo

- Portaobjetos sucio
- Baño de flotación sin quitar la espuma o baño contaminado
- Portaobjetos drenados, secos o almacenados en un entorno polvoriento
- Fragmentos de mina de lápiz del etiquetado

Referencias

1. Leica Microsystems. Instruction Manual Leica RM2235 V1.3 Nussloch: Leica Microsystems, 2008.
2. Rolls GO, Farmer NJ, Hall JB. Artifacts in Histological and Cytological Preparations. Melbourne: Leica Microsystems, 2008;106.
3. Rolls G. 101 Steps to Better Histology. Melbourne: Leica Microsystems, 2008.
4. Culling CFA, Allison RT, Barr WT. Cellular Pathology Technique. 4th ed. London: Butterworths, 1985.
5. Santoianni RA, Hammami A. Nuclear Bubbling an Overlooked Artifact. The Journal of Histotechnology, 1990;13;135-136.

"Con el usuario, para el usuario"
Leica Microsystems



